

ИЗМЕНЕНИЕ ФАЗОВОГО ПОРТРЕТА И ЭЛЕКТРОФОРЕТИЧЕСКОЙ ПОДВИЖНОСТИ ЭРИТРОЦИТОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ВИДАХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

DOI: 10.17691/stm2019.11.2.09

УДК 616.155.1:615.844.6

Поступила 14.06.2018 г.

© **А.В. Дерюгина**, д.б.н., доцент, зав. кафедрой физиологии и анатомии Института биологии и биомедицины¹;
М.Н. Иващенко, к.б.н., доцент кафедры биохимии им. Г.Я. Городисской²;
П.С. Игнатъев, к.физ.-мат.н., начальник отдела медицинских изделий и микроскопии³;
М.С. Лодяной, к.б.н., доцент кафедры физиологии и биохимии животных⁴;
А.Г. Самоделкин, д.б.н., профессор, зав. кафедрой физиологии и биохимии животных⁴

¹Национальный исследовательский Нижегородский государственный университет им. Н.И. Лобачевского, пр. Гагарина, 23, Н. Новгород, 603950;

²Приволжский исследовательский медицинский университет, пл. Минина и Пожарского, 10/1, Н. Новгород, 603005;

³Производственное объединение «Уральский оптико-механический завод им. Э.С. Яламова», ул. Восточная, 33б, Екатеринбург, 620100;

⁴Нижегородская государственная сельскохозяйственная академия, пр. Гагарина, 97, Н. Новгород, 603107

Цель исследования — изучение фазового портрета, электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ) и клинико-лабораторных показателей крови у пациентов с различными видами заболеваний.

Материалы и методы. Изучены фазовый портрет, ЭФПЭ и клинико-лабораторные показатели крови пациентов с сердечно-сосудистыми, бронхолегочными, гинекологическими, гастроэнтерологическими заболеваниями. Фазовый портрет исследован методом лазерной интерферометрии, ЭФПЭ — методом микроэлектрофореза. Клинико-лабораторные показатели включали измерение количества эритроцитов, гемоглобина, лейкоцитов, СОЭ стандартными клиническими методами. В экспериментах *in vitro* исследован фазовый портрет и ЭФПЭ при действии адреналина и кортизола.

Результаты. С помощью лазерной интерферометрии получены фазовые изображения эритроцитов при сердечно-сосудистых, гастроэнтерологических, пульмонологических и гинекологических заболеваниях. Анализ галереи фазовых изображений эритроцитов показал, что изменения были однонаправленными при всех видах патологии и характеризовались увеличением количества эхиоцитов. Морфологическая модификация эритроцитов коррелировала с изменениями ЭФПЭ и клинико-лабораторными показателями крови и отражала степень стресса и включения адаптационных процессов при проводимой терапии. Влияние стресс-реализующих систем подтверждено экспериментами *in vitro* при действии адреналина и кортизола.

Заключение. Показатели ЭФПЭ и фазового портрета эритроцитов, полученные с использованием современных методов точного микроэлектрофореза и лазерной интерферометрии, позволяют получать новую информацию о внутренней структуре цитобъектов без специальной подготовки проб и использования контрастирующих или флюоресцирующих зондов.

Эти показатели могут использоваться для количественной характеристики степени стрессовой реакции и развития адаптационных процессов, что имеет важное значение при переходе к персонализированной медицине.

Ключевые слова: лазерная интерферометрия; фазовый портрет эритроцитов; электрофоретическая подвижность эритроцитов.

Как цитировать: Deryugina A.V., Ivashchenko M.N., Ignatiev P.S., Lodyanoy M.S., Samodelkin A.G. Alterations in the phase portrait and electrophoretic mobility of erythrocytes in various diseases. *Sovremennye tehnologii v medicine* 2019; 11(2): 63–68, <https://doi.org/10.17691/stm2019.11.2.09>

English

Alterations in the Phase Portrait and Electrophoretic Mobility of Erythrocytes in Various Diseases

A.V. Deryugina, DSc, Associate Professor, Head of the Department of Physiology and Anatomy, Institute of Biology and Biomedicine¹;

Для контактов: Иващенко Марина Николаевна, e-mail: kafedra2577@mail.ru

M.N. Ivashchenko, PhD, Associate Professor, Department of Biochemistry named after G.Ya. Gorodisskaya²;
P.S. Ignatiev, PhD, Head of Medical Device and Microscopy Department³;
M.S. Lodyanoy, PhD, Associate Professor, Department of Animal Physiology and Biochemistry⁴;
A.G. Samodelkin, DSc, Professor, Head of the Department of Animal Physiology and Biochemistry⁴

¹National Research Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod, 23 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603950, Russia;

²Privolzhsky Research Medical University, 10/1 Minin and Pozharsky Square, Nizhny Novgorod, 603005, Russia;

³Production Association "Ural Optical and Mechanical Plant named after Mr. E.S. Yalamov", 33b Vostochnaya St., Ekaterinburg, 620100, Russia;

⁴Nizhny Novgorod State Agricultural Academy, 97 Prospekt Gagarina, Nizhny Novgorod, 603107, Russia

The aim of the investigation was to study a phase portrait, electrophoretic mobility of erythrocytes (EPME), and clinical and laboratory blood indices in patients with various types of diseases.

Materials and Methods. A phase portrait, EPME, and clinical and laboratory blood indices have been studied in patients with cardiovascular, bronchopulmonary, gynecological, and gastroenterological diseases. The phase portrait was investigated using laser interferometry technique, EPME was determined by microelectrophoresis. The clinical and laboratory indices included counting the number of erythrocytes and leukocytes, measurements of hemoglobin content and ESR by means of standard clinical methods. The phase portrait and EPME were studied under the action of adrenaline and cortisol in experiments *in vitro*.

Results. Using laser interferometry, phase images of erythrocytes in cardiovascular, gastroenterological, bronchopulmonary, and gynecological diseases have been obtained. The analysis of the gallery of erythrocyte phase images has shown that alterations were unidirectional in all types of pathologies and were characterized by the increase of echinocyte number. The morphological modification of erythrocytes correlated with EPME changes and clinical and laboratory blood indices and reflected the degree of stress and triggering of adaptive processes in the course of the conducted therapy. Influence of stress-realizing systems has been confirmed by the *in vitro* experiments under the action of adrenaline and cortisol.

Conclusion. Indices of EPME and erythrocyte phase portrait obtained with the help of the current techniques of cellular microelectrophoresis and laser interferometry provide the opportunity to obtain new information on the internal structure of cytoobjects without special preparations of specimens and contrast or fluorescent probes.

These indices may be applied for quantitative characteristic of the stress reaction degree and the development of adaptive processes which is of great importance for the transition to personified medicine.

Key words: laser interferometry; phase portrait of erythrocytes; electrophoretic mobility of erythrocytes.

Введение

Одним из современных направлений клинической медицины является переход к трансляционной медицине, которая предполагает внедрение результатов фундаментальных исследований биомедицины в медицинскую практику для повышения эффективности диагностики и лечения [1].

Несомненный научный и практический интерес представляют разработка и внедрение инновационных технологий для оптимизации процессов диагностики, лечения, прогнозирования исходов заболеваний и их профилактики.

К таким перспективным технологиям можно отнести лазерную интерферометрию. С ее помощью можно в режиме реального времени получить изображение живых функционирующих клеток с нанометровым разрешением. Регистрируя интерференционный сигнал, проходящий через цитообъект, исследователь получает фазовое изображение клетки. В случае прозрачных объектов, таких как нативная клетка, фазовое изображение может нести информацию не только о ее пространственных характеристиках, но и о распределении оптической плотности внутри цитообъекта. Важным достоинством лазерной интерферометрии

является количественный характер получаемых данных. В отличие от традиционных методов оптической и электронной микроскопии, где изображение представляет собой распределение яркости (интенсивности) излучения в плоскости фотоприемника, фазовый портрет характеризуется распределением нормированной статистически значимой величины — фазовой толщины объекта, не зависящей от внешних факторов и настроек прибора [2, 3].

Цель исследования — изучение фазового портрета, электрофоретической подвижности эритроцитов и клинико-лабораторных показателей крови больных с различными видами заболеваний.

Материалы и методы

Был проведен анализ крови пациентов с сердечно-сосудистыми, бронхолегочными, гинекологическими и гастроэнтерологическими заболеваниями (по 20 пациентов в каждой группе). Диагноз формулировался врачом в соответствии с общепринятыми клиническими критериями, на основании собранного анамнеза и подтверждался лабораторными и клиническими исследованиями.

Работа проведена в соответствии с Хельсинкской

декларацией (2013) и одобрена Этическим комитетом Национального исследовательского Нижегородского государственного университета им. Н.И. Лобачевского.

Критериями включения в исследование служили наличие у пациентов острого состояния, а также добровольное информированное согласие, полученное в соответствии с требованиями ст. 9 Федерального закона от 27.07.2006 «О персональных данных» №152-ФЗ. Лечение больных включало проведение стандартных терапевтических мероприятий.

Исследование комплексной фазометрии эритроцитов выполняли методом лазерной интерферометрии на микроскопе МИМ-340 («Швабе», Россия). В работе использовали лазер с длиной волны 532 нм и объектив с увеличением 20, разрешением по поверхности до 15 нм, разрешением по вертикали 0,1 нм и возможностью контроля изделий с глубиной рельефа до 600 нм. Регистрировали морфологию нативных клеток без предварительной фиксации, что позволяло визуализировать модификацию клеток в режиме реального времени, изучать их морфологию и динамику внутриклеточных процессов.

Измерение электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ) проводили методом микроэлектрофореза [4]. В день определения ЭФПЭ готовили взвесь эритроцитов и использовали ее для получения отмывтых эритроцитов с помощью трехкратного центрифугирования при 1500 об./мин в течение 10 мин с 0,9% раствором хлористого натрия. Суспензию клеток разводили в 10 мМ трис-НСI буфере (рН=7,4) и измеряли ЭФПЭ методом микроэлектрофореза в горизонтальной микрокамере при силе тока 12 мА.

Исследование лабораторно-клинических показателей крови (количества гемоглобина, общего количества эритроцитов, лейкоцитов, СОЭ) осуществляли стандартными клиническими методами [5].

Фазовый портрет эритроцитов, ЭФПЭ и клинический анализ крови исследовали до начала и после проведения терапевтических мероприятий.

В экспериментах *in vitro* используемые в опытах эритроциты трижды отмывали 0,85% раствором хлористого натрия и инкубировали с адреналином ($1 \cdot 10^{-9}$ г/мл) и кортизолом ($5 \cdot 10^{-7}$ г/мл). Каждая серия включала по 20 опытов.

Результаты исследований стати-

стически обрабатывали с использованием описательной статистики и t-критерия Стьюдента. Обработку данных осуществляли с помощью программы BioStat. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

Результаты и обсуждение

На представленных фазовых изображениях эритроцитов при сердечно-сосудистых, гастроэнтерологических, пульмонологических и гинекологических заболеваниях в псевдоцвете четко визуализируются границы живых функционирующих клеток (рис. 1). Это позволяет в процессе динамического наблюдения с высокой точностью оценивать изменения их формы, размеров, плотности. Выявлено, что при всех видах патологии наблюдалось увеличение количества эритроцитов. При сердечно-сосудистых и пульмоно-

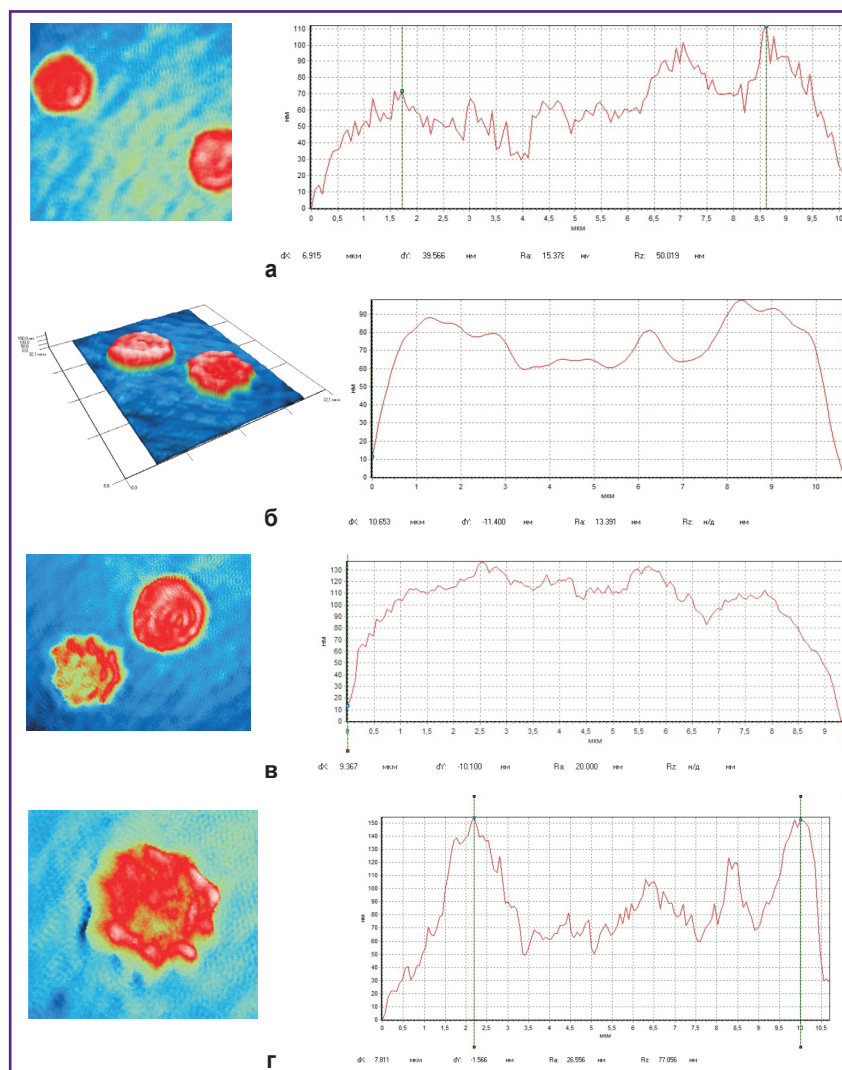


Рис. 1. Фазовый портрет (слева) и фазовый профиль (справа) эритроцитов:

а — при сердечно-сосудистых заболеваниях; **б** — при гинекологических заболеваниях; **в** — при пульмонологических заболеваниях; **г** — при гастроэнтерологических заболеваниях

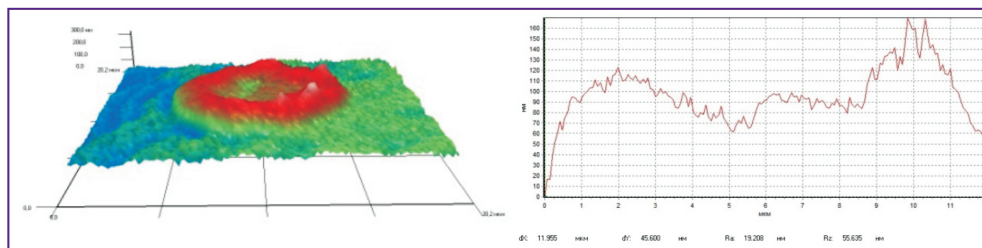


Рис. 2. Фазовый портрет (слева) и фазовый профиль (справа) эритроцитов после проведения терапии при всех видах патологии

логических заболеваниях пойкилоцитоз был менее выражен, чем при гастроэнтерологических и гинекологических. На фоне пульмонологических и гинекологических заболеваний увеличивалась сферичность эритроцитов.

Проведение терапии при всех видах патологии способствовало снижению доли морфологически из-

мененных форм эритроцитов. Дискоциты больных, обследованных после курса терапии, имели негладкую поверхность с выростами (рис. 2). Появление неровностей на поверхности клеток может быть обусловлено начальной стадией перехода дискоцитов в эхиноциты, формирование которых сдерживается адаптационными процессами в клетке.

Для верификации использования данных лазерной интерферометрии эритроцитов в качестве показателя наличия патологического процесса нами были сопоставлены полученные результаты с результатами изучения ЭФПЭ и стандартными клинико-лабораторными исследованиями.

Ранее было установлено [6–8], что изменение ЭФПЭ позволяет характеризовать развитие стресс-реакции и включение адаптационных резервов организма. Как показали эксперименты с моделированием стресса на животных [6], снижение ЭФПЭ наблюдается при активации симпатoadреналовой системы, тогда как рост электрофоретической подвижности связан с активацией гипофизарно-надпочечниковой системы и повышением резистентности организма.

Исследование клинико-лабораторных показателей крови и ЭФПЭ больных выявило их значимые изменения после проводимой терапии при исследуемых видах патологий (табл. 1). Так, рост лейкоцитов и СОЭ до лечения при всех видах заболеваний сочетался с уменьшением ЭФПЭ, тогда как снижение этих показателей в ходе терапии сопровождалось увеличением ЭФПЭ. При этом чувствительность ЭФПЭ к изменению гомеостаза организма была выше по сравнению с другими показателями, что проявилось в статистической значимости его изменения при всех патологиях в отличие от клинико-лабораторных показателей, значимость которых не всегда была выражена.

Обсуждая механизмы изменения фазового портрета и ЭФПЭ при разных патологиях до и после лечения, можно утверждать, что данные изменения не зависят от этиологии заболевания и носят типовой характер. Основываясь на ранее выявленной зависимости ЭФПЭ от развития стресс-реакции и включения адаптационных процессов [9, 10], можно считать, что появление эхиноцитарной трансформации клеток и снижение ЭФПЭ обусловлено развитием стрессовой реакции, выраженность которой проявляется в значительном снижении ЭФПЭ и появле-

Таблица 1

Изменение клинико-лабораторных показателей крови и электрофоретической подвижности эритроцитов (ЭФПЭ) у пациентов с разными видами заболеваний

Показатели	До лечения	После лечения
С сердечно-сосудистыми заболеваниями		
Гемоглобин, г/л	126,00±6,28	128,60±2,76
Эритроциты, ×10 ¹² /л	4,78±0,14	4,58±0,38
СОЭ, мм/ч	14,25±1,41	11,57±1,55
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	9,31±0,36	8,40±0,35*
ЭФПЭ, мкм·см·В ⁻¹ ·с ⁻¹	1,22±0,07	1,72±0,08*
С пульмонологическими заболеваниями		
Гемоглобин, г/л	123,00±3,51	133,70±3,76
Эритроциты, ×10 ¹² /л	4,33±0,36	5,03±0,53
СОЭ, мм/ч	33,00±2,62	26,33±3,36*
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	11,20±0,74	9,67±1,20
ЭФПЭ, мкм·см·В ⁻¹ ·с ⁻¹	1,09±0,09	1,73±0,08*
С гинекологическими заболеваниями		
Гемоглобин, г/л	99,67±0,36	113,20±6,49*
Эритроциты, ×10 ¹² /л	3,73±0,13	4,03±0,21
СОЭ, мм/ч	34,00±1,63	29,71±2,43*
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	9,33±1,31	8,33±0,79
ЭФПЭ, мкм·см·В ⁻¹ ·с ⁻¹	1,15±0,06	1,55±0,08*
С гастроэнтерологическими заболеваниями		
Гемоглобин, г/л	114,70±4,77	117,60±2,79
Эритроциты, ×10 ¹² /л	3,96±0,09	4,16±0,13
СОЭ, мм/ч	13,19±1,45	11,55±2,28
Лейкоциты, ×10 ⁹ /л	10,10±0,66	8,10±0,98*
ЭФПЭ, мкм·см·В ⁻¹ ·с ⁻¹	1,22±0,02	1,37±0,08*

* — p≤0,05 по отношению к уровню данных показателей до лечения.

Таблица 2

Динамика изменения электрофоретической подвижности эритроцитов под действием адреналина и кортизола *in vitro*, мкм·см·В⁻¹·с⁻¹

Вид воздействия	Время после воздействия, мин				
	15	30	60	120	180
Адреналин	1,24±0,05	1,19±0,08*	1,15±0,07*	1,14±0,05*	1,16±0,04*
Кортизол	1,36±0,03	1,52±0,06*	1,96±0,06*	1,72±0,08*	1,31±0,05
Физиологический раствор	1,33±0,02	1,36±0,06	1,32±0,06	1,35±0,04	1,29±0,05

* — статистически значимые различия значений (p<0,05) с контрольными (физиологический раствор).

нии сфероэритроцитов. Но тогда восстановление ЭФПЭ и формы клеток после терапии будет свидетельствовать об ограничении стресс-реакции и включении адаптационных процессов.

Для подтверждения данного положения нами были проведены эксперименты *in vitro*, связанные с анализом изменения ЭФПЭ и морфологического образа эритроцитов при действии адреналина и кортизола, поскольку первая фаза стресс-реакции сопряжена с увеличением концентрации адреналина в периферической крови, а вторая фаза — развитие резистентности — сочетается с увеличением концентрации кортизола, действие которого направлено на элиминацию стресса.

Исследование показало, что при действии адреналина наблюдалось однонаправленное снижение ЭФПЭ, тогда как действие кортизола определило ее увеличение (табл. 2). Фазовый портрет эритроцитов также менялся не одно-типно: действие адреналина определило увеличение сферичности клеток (рис. 3, а), при действии кортизола наблюдалось появление эхиноцитов, но выраженность эхиноцитарной трансформации была незначительна (рис. 3, б).

Таким образом, полученные результаты позволяют утверждать, что при развитии патологического процесса прогрессирует стрессовая реакция, которая проявляется в изменении морфологии эритроцитов и их электрофоретической подвижности. Чем интенсивнее развивается патологический процесс, тем сильнее проявляется стресс, что обуславливает рост патологически измененных эритроцитов с сфероэритроцитарной трансформацией и снижение ЭФПЭ. Взаимодействие адреналина, концентрация которого коррелирует с уровнем стресса, с рецепторами эритроцитов сопровождается активацией фос-

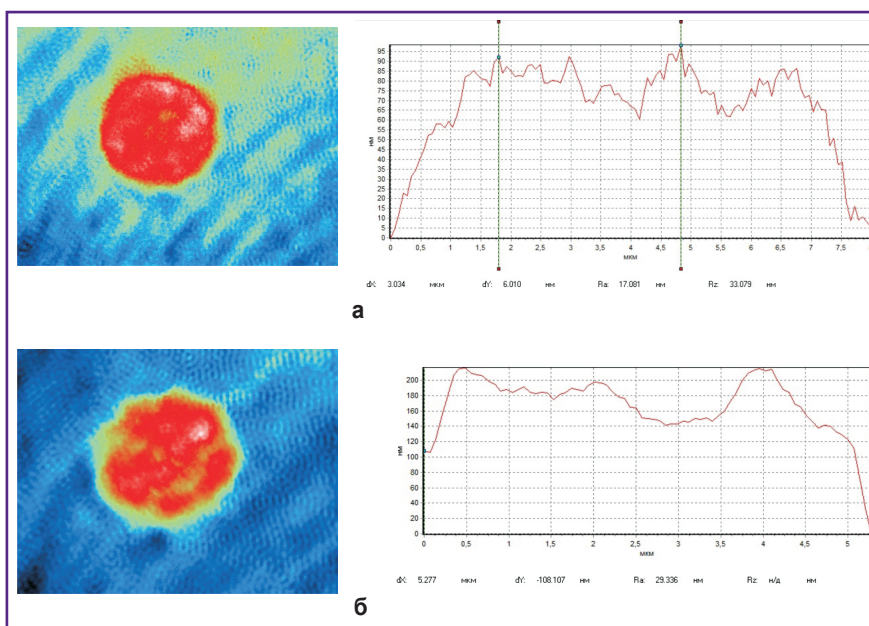


Рис. 3. Фазовый портрет (слева) и фазовый профиль (справа) эритроцитов *in vitro* при действии исследуемых веществ: а — адреналин; б — кортизол

фолипаз, увеличением скорости перекисного окисления липидов, а также частичным повреждением мембран за счет потери гормон-рецепторных комплексов с поверхности мембран, что обуславливает увеличение проницаемости эритроцитарных мембран [11]. Проведение терапевтических мероприятий приводит к ограничению стресс-реакции, которое может быть вызвано включением адаптационных процессов в организме под действием кортизола, что отражается на структуре эритроцитов: происходит уменьшение сфероэритроцитов. При этом сохраняются эхиноцитарные клетки, что сочетается с повышенным уровнем ЭФПЭ.

Заключение

Показатели ЭФПЭ и фазового портрета эритроцитов, полученные с использованием современных методов клеточного микроэлектрофореза и лазерной

интерферометрии, позволяют получать новую информацию о внутренней структуре цитообъектов без специальной подготовки проб и использования контрастирующих или флюоресцирующих зондов.

Эти показатели могут быть применены для количественной характеристики степени стрессовой реакции и развития адаптационных процессов, что имеет важное значение при переходе к персонализированной медицине.

Финансирование исследования. Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований в рамках научного проекта №18-016-00195.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов, о которых необходимо сообщить.

Литература/References

1. Пальцев М.А., Белушкина Н.Н. Трансляционная медицина — новый этап развития молекулярной медицины. *Молекулярная медицина* 2012; 4: 16–19. Paltsev M.A., Belushkina N.N. Translational medicine — a new stage of molecular medicine development. *Molekulyarnaya meditsina* 2012; 4: 16–19.

2. Наймарк О.Б., Никитюк А.С., Небогатиков В.О., Гришко В.В. Оценка нелинейной динамики поврежденности клеточных структур как перспективный метод персонализированной онкодиагностики. *Альманах клинической медицины* 2018; 46(8): 742–747. Naimark O.B., Nikityuk A.S., Nebogatikov V.O., Grishko V.V. Evaluation of nonlinear dynamics of the cell structure damage as a promising method for personalized cancer diagnostics. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny* 2018; 46(8): 742–747.

3. Василенко И.А., Метелин В.Б., Игнатъев П.С., Кардашова З.З., Лифенко Р.А. Диалог с клеткой: диагностическая real-time технология на основе лазерной интерферометрии. *Альманах клинической медицины* 2018; 46(8): 748–757. Vasilenko I.A., Metelin V.B., Ignat'ev P.S., Kardashova Z.Z., Lifenko R.A. A dialogue with the cell: diagnostic real-time technology based on laser interferometry. *Al'manakh klinicheskoy meditsiny* 2018; 46(8): 748–757.

4. Дерюгина А.В., Ерофеева Е.Б., Корягин А.С. Неспецифические адаптационные реакции крови и методы их определения. Н. Новгород: Изд-во Нижегородского государственного университета; 2007. Deryugina A.V., Erofeeva E.B., Koryagin A.S. *Nespetsificheskie adaptatsionnye reaktsii krovi*

i metody ikh opredeleniya [Non-specific adaptation reactions of the blood and methods for their determination]. Nizhny Novgorod: Izd-vo Nizhegorodskogo gosuniversiteta; 2007.

5. Клиническая лабораторная диагностика. Национальное руководство. Под ред. Меньшикова В.В., Долгова В.В. М: ГЭОТАР-Медиа; 2012; 928 с. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika. Natsional'noe rukovodstvo* [Clinical laboratory diagnostics. National guide]. Pod red. Men'shikova V.V., Dolgova V.V. [Men'shikov V.V., Dolgov V.V. (editors)]. Moscow: GEOTAR-Media; 2012; 928 p.

6. Крылов В.Н., Дерюгина А.В., Плескова С.Н. Электрофоретическая подвижность и морфометрия эритроцитов крыс при стрессовых воздействиях. *Современные технологии в медицине* 2010; 4: 23–26. Krylov V.N., Deryugina A.V., Pleskova S.N. Electrophoretic mobility and morphometry of the rat erythrocytes at the stress effects. *Sovremennyye tehnologii v medicine* 2010; 4: 23–26.

7. Головецкий И.Я., Мороз В.В., Бирюкова Л.С., Козинец Г.И., Попова О.В. Электрофоретическая подвижность эритроцитов у больных с тяжелыми формами интоксикации. *Общая реаниматология* 2007; 3(5–6): 75–79. Golovetsky I.Ya., Moroz V.V., Biryukova L.S., Kozinets G.I., Popova O.V. Electrophoretic mobility of red blood cells in patients with severe forms of intoxication. *Obshchaya reanimatologiya* 2007; 3(5–6): 75–79.

8. Бирюкова Л.С., Пурло Н.В., Козинец Г.И. Морфофункциональные свойства эритроцитов у больных в терминальной стадии хронической почечной недостаточности, получающих заместительное лечение программным гемодиализом и эритропоэтином. *Нефрология и диализ* 2003; 5(1): 69–74. Biryukova L.S., Purlo N.V., Kosinets G.I. Functional properties of red blood cells in hemodialysis patients with chronic renal failure (CRF) corrected by EPO. *Nefrologiya i dializ* 2003; 5(1): 69–74.

9. Deryugina A.V., Shumilova A.V., Filippenko E.S., Galkina Y.V., Simutis I.S., Boyarinov G.A. Functional and biochemical parameters of erythrocytes during mexicor treatment in posttraumatic period after experimental blood loss and combined traumatic brain injury. *Bull Exp Biol Med* 2017; 164(1): 26–29, <https://doi.org/10.1007/s10517-017-3918-4>.

10. Deryugina A.V., Ivashchenko M.N., Ignatiev P.S., Balalaeva I.V., Samodelkin A.G. Low-level laser therapy as a modifier of erythrocytes morphokinetic parameters in hyperadrenalinemia. *Lasers Med Sci* 2019, <https://doi.org/10.1007/s10103-019-02755-y>.

11. Makshanova G.P., Ust'yantseva I.M., Petukhova O.V., Agadzhanyan V.V. Change in permeability of erythrocyte membranes and in parameters of lipid metabolism in patients with multiple trauma upon early and delayed surgical treatment human physiology. *Hum Physiol* 2003; 29(1): 85–89.